

И. А. Уткина, И. М. Синягина

СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА МИТОЗОВ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ ЯЧМЕНЯ

Суточная периодичность митозов является частным проявлением периодической деятельности организма и основой ритмичности его органообразовательных процессов. Управление митотическим делением и ростом клеток открывает возможности регулирования процессами органогенеза побега и растения в целом.

Вопрос о суточной периодичности деления клеток вызывает интерес исследователей на протяжении всего текущего столетия (Kellicott, 1904; Karsten, 1915; Rotta, 1949; Lance, 1952; Гриф, 1959). Детальный литературный обзор по динамике митотической активности верхушечной меристемы побегов и корней на протяжении суток с суммированием работ предшествующих исследователей впервые проведен Фриснером (Friesner, 1920), а спустя 40 лет — Эдгаром (Edgar, 1961).

В течение последних двух десятилетий внимание исследователей к проблеме суточных ритмов клеточных делений не ослабевает (Seror, 1959; Schreiter, Meinl, 1963; Tourte, 1966; Remacle-Dath, 1966; Sarma, 1969; Мовсесян, 1970).

Несмотря на довольно большую информацию о встречаемости суточной ритмики митозов в меристемах побегов и корней, данные авторов часто не согласуются и даже противоречат друг другу. Случалось, что на одном и том же виде растения итоги исследований были различны (Мовсесян, 1970; Tourte, 1966; Jensen, Kavaljian, 1958; Makinen, 1963; Rotta, 1949; Lance, 1952).

В исследованиях использовано весьма ограниченное количество видов растений. Наиболее часто использовались для этой цели бобы, горох, лук, элодея и традесканция. Среди объектов изучения сравнительно мало злаков.

Нами проведено изучение динамики митозов в корневой меристеме проростков ячменя (*Hordeum sativum* L.) в течение двух последовательных суток при разных условиях проращивания зерновок.

Опыт проводили в двух вариантах: 1 — постоянная темнота;

2 — постоянное освещение люминесцентными лампами ДС-40. Зерновки проращивали в лабораторных условиях на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри, которые располагали на специально смонтированной установке. Температура воздуха на протяжении суток была почти постоянной (30—31°).

Фиксацию материала начали на четвертые сутки после замачивания зерновок в 8 час. утра 4 июля 1972 г. одновременно в обоих вариантах. Зародышевый корень в это время имел размеры 2—3 см. Фиксировали верхушки корней в смеси Навашина через 2 час. в течение 2 суток в 15-кратной повторяемости для каждой пробы. Готовили постоянные препараты с толщиной срезов 7 мк. В качестве красителя использовали гематоксилин по Гайдентайну.

При изучении препаратов под микроскопом МБР-3 подсчитывали общее число клеток на медианном продольном срезе корня и его отдельных гистологических зонах, а также число митозов. Подсчет клеток проводили на участке выше корневого чехлика, протяженностью в среднем 0,47 мм в площади поля зрения микроскопа 20 × 10. Митотический индекс выражали в процентах и определяли как отношение делящихся клеток к общему числу клеток на срезе.

Результаты опыта показали, что при проращивании зерновок ячменя в условиях постоянной температуры и темноты в корневой меристеме проростков на протяжении суток четко проявляется периодичность клеточных делений. Суточный ход митозов не является равномерным, наблюдаются закономерные колебания, выражающиеся в четких подъемах и спадах активности деления клеток. Дисперсионный анализ подтверждает достоверность изменения митотического индекса в зависимости от времени на протяжении двух последовательных суток ($F_{\text{факт}} = 22,4$ и $24,8$; $F_{\text{табл.}} = 2,18$ при $P = 0,01$).

Графически (рис. 1) динамика митотической активности меристемы корня в течение первых суток характеризуется двувершинной кривой с максимумами деления клеток $8(8,2 \pm 0,4\%)$ и $16(8,4 \pm 1,2)$ час. Снижение активности деления клеток происходит через 6 час. после первого подъема (14 час.; $2,7 \pm 0,4\%$) и в 2 час. ночи ($3,8 \pm 0,1\%$). Амплитуда колебания митотического индекса на протяжении суток составляет 5,7%.

Четко выраженная ритмичность в суточном ходе клеточных делений наблюдается в меристеме корня ячменя и на вторые сутки (рис. 1). Первый подъем клеточных делений происходит в 8 час. утра, достигая $8,5 \pm 0,6\%$, второй — в 16 час. ($6,3 \pm 0,2\%$). Минимумы митотической активности наблюдаются в 14 и 24 час. Амплитуда колебаний величины митотического индекса почти такая же, как и в первые сутки (5,6%).

В целом на протяжении двух последовательных суток характер изменения митотической активности в меристеме корня ячменя остается без изменения. Как в первые, так и во вторые сутки ход кривой, отражающей изменение митотического индекса по часам

суток, почти одинаков. Максимальных подъемов митозов два и наблюдаются они в одно и то же время (8 и 16 час.). Дневной минимум также совпадает по времени (14 час.), ночной же — во вторые сутки смещен на два часа по сравнению с первыми. Следовательно, можно предположить, что ритм клеточных делений в разные сутки почти совпадает. Корневая меристема ячменя наиболее митотически активна в утренние и послеполуденные часы.

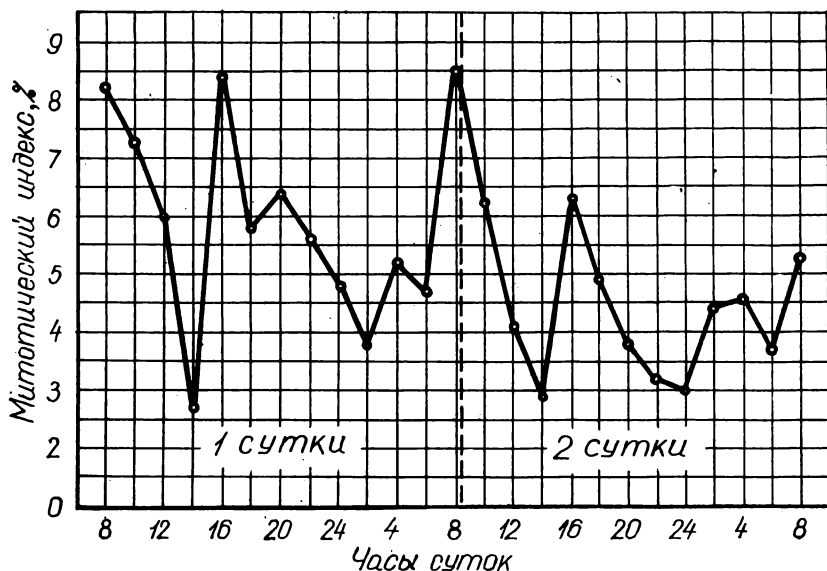


Рис. 1. Изменение митотического индекса в корневой меристеме ячменя на протяжении двух последовательных суток в условиях постоянной темноты.

В количественном отношении митотическая деятельность клеток меристемы в первые и вторые сутки опыта несколько отлична. В первые сутки митотический индекс по своей величине в часы минимумов почти одинаков, во вторые — утренний пик на 2,2% выше послеполуденного. Это сказалось и на величине среднесуточного митотического индекса. За первые сутки в среднем он равен $5,9 \pm 0,4\%$, а за вторые — $4,7 \pm 0,3\%$.

Наши данные подтверждают ранее проведенные исследования С. Н. Мовсисян (1970). На примере корней пшеницы она отмечает, что на второй день сохраняется тот же характер ритма карิโอкинеза, что и в первый, но деление идет на более низком уровне. Турт (Tourte, 1966), изучая митотическую активность корневой меристемы пшеницы, показала, что ритм изменения числа митозов во вторые сутки аналогичен ритму первых суток.

К иному выводу пришли Харте и Цинескер-Брауер (Harte, Zinecker-Brauer, 1960), Шрейтер и Майнл (Schreiter, Meinl, 1963).

По их мнению, ритмика митотической активности меристемы корня не имеет строгого повторения в одни и те же часы суток и в последующие сутки может сдвигаться во времени.

Результаты опыта о присутствии в суточной динамике митозов меристемы корня проростков ячменя двух максимальных подъемов и двух спадов деления клеток согласуются с данными других исследователей (Jensen, Kavaljian, 1958; Alfieri, Evert, 1968; Sarma, 1969; Мовсесян, 1970). Однако в литературе есть и другие сведения (Hagemann, 1956; Гриф, 1959). В. Г. Гриф (1959), изучая митотическое деление клеток в меристемах стебля и корня ячменя в естественных условиях произрастания (Ленинградская обл.), обнаружил в течение суток один максимум и один минимум числа митозов.

Хагеманн (Hagemann, 1956) при проращивании зерновок ячменя в условиях, сходных с нашими (постоянная темнота и постоянная температура), не наблюдал в корнях ритмики деления клеток вообще. По его мнению, только переменная на протяжении суток температура в опыте приводит к периодизации митозов с максимумом митотической активности между 18 и 24 час. Выводы Хагеманна (Hagemann, 1956) и других авторов (Winter, 1929; Rotta, 1949) об отсутствии в корневых меристемах суточного ритма клеточных делений в постоянных условиях выращивания растений кажутся нам маловероятными. Корни растений и в обычных условиях сами по себе не подвергаются световым воздействиям. Периодическая смена дня и ночи передается им через метаболизм ассимиляционного аппарата и проводящие ткани (Курсанов, 1960).

Доказательством присутствия суточной ритмики деления клеток корневой меристемы являются убедительные опыты многих исследователей (Friesner, 1920; Seror, 1959; Tourte, 1966; Sarma, 1969), особенно немецких (Harte, Zinecker-Brauer, 1960).

Имеющиеся литературные сведения и данные нашего опыта о ритмике митозов в корневой меристеме ячменя на протяжении двух последовательных суток при проращивании зерновок в постоянных условиях (полная темнота, постоянная температура) позволяют предположить, что в комплексе условий, определяющих суточную динамику митозов, существенную роль играют внутренние факторы — физиолого-биохимические процессы. Суточная ритмика митотической активности, по-видимому, в первую очередь обуславливается ритмом биосинтеза белка и нуклеиновых кислот. В настоящее время, благодаря работам Э. Бюннинга (1961), А. Т. Мокроносова (1962), Е. Е. Крастиной (1965) и др., мы располагаем довольно подробными сведениями о суточной периодичности синтеза нуклеиновых кислот и аминокислот.

Представлялось интересным проследить динамику митотической деятельности меристемы корня на протяжении суток при проращивании зерновок ячменя в условиях постоянного освещения и температуры. В литературе имеются сведения, что постоянное освещение угнетающе действует на клеточное деление в корневой

меристеме и изменяет суточный ход митозов (Karsten, 1915; Seror, 1959).

Исследования показали, что в варианте опыта с постоянным освещением, как и при постоянной темноте, деление клеток в течение

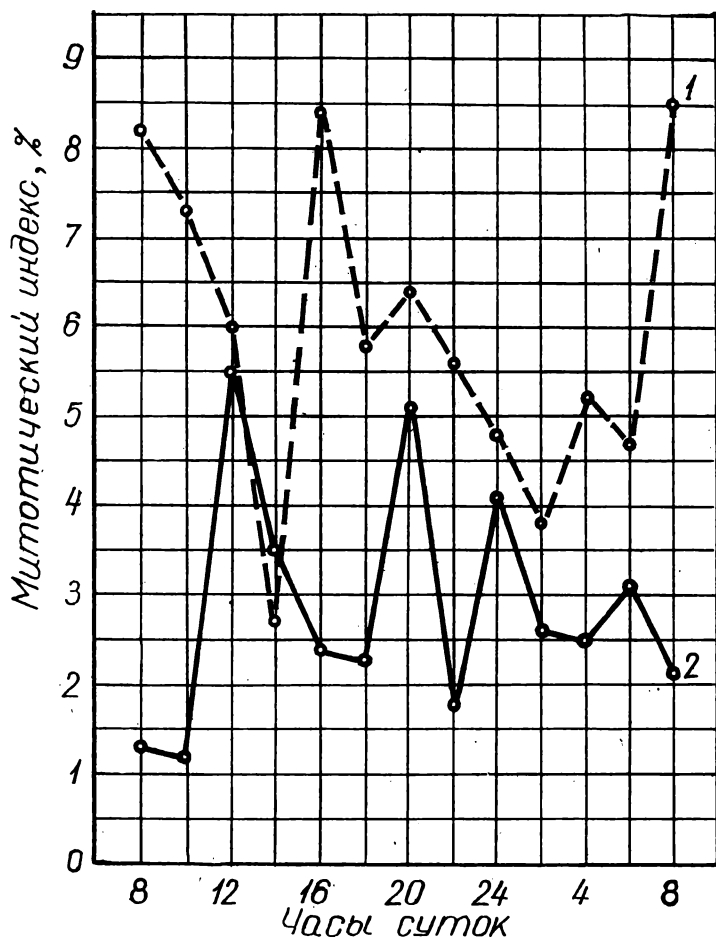


Рис. 2. Суточное изменение митотического индекса в корневой меристеме ячменя в разных условиях проращивания зерновок:

1 — постоянная темнота, 2 — постоянное освещение.

ние суток протекает с определенной периодичностью во времени. Количественная величина подъемов и спадов митозов различна (рис. 2). Первый пик митотической активности отмечается в 12 час. дня ($5,5 \pm 0,3\%$). Ему предшествует резкий спад клеточных делений в утренние часы. К 18 час. количество митозов постепенно снижается до $2,3 \pm 0,3\%$. Второй максимум митотической активности наблюдается в 20 час. ($5,1 \pm 0,1\%$). В дальнейшем происхо-

дит снижение митотического индекса до $1,8 \pm 0,3\%$ к 22 час., после чего, незначительно повышаясь в 24 час., он снова снижается утром до $2,1 \pm 0,6\%$. Статистическая обработка данных показала достоверность различий в величине митотического индекса в зависимости от времени суток. Полученное значение критерия F значительно выше табличного ($F_{\text{факт.}} = 45,0$; $F_{\text{табл.}} = 2,18$ при $P = 0,01$).

Ход кривой, отражающей митотическую деятельность корня на протяжении суток в условиях постоянного освещения, значительно отличается от кривой, отражающей изменение митотического индекса в варианте с постоянной темнотой (рис. 2). Максимумы и минимумы митозов смещены по времени и их количество не одинаково: в темноте их два (в 8 и 16 час.), при освещении — три (12, 20 и 24 час.). В утренние часы в первом варианте митотический индекс максимален ($8,2 \pm 0,4\%$), в это же время во втором варианте наблюдается спад клеточных делений ($1,3 \pm 0,2\%$). Аналогичное происходит и в 16 час.

В условиях постоянного освещения высота подъемов митотической активности корневой меристемы ниже, чем при постоянной темноте. В среднем за сутки в темноте митотический индекс равен $5,9 \pm 0,4\%$, а в условиях постоянного освещения — $2,8 \pm 0,2\%$. Следовательно, постоянный свет угнетает митотическую деятельность меристемы корня ячменя, снижая митотический индекс примерно в 2 раза, и изменяет суточный ход клеточных делений. Можно предположить, что и внешние факторы (свет) оказывают влияние на митотическую деятельность клеток корневой меристемы.

По вопросу о распределении митозов по зонам меристемы в литературе существуют противоречивые сведения. По мнению большинства исследователей (Lance, 1952; Hagemann, 1956; Denpe, 1966; Remacle-Dath, 1966; Ростовцева, 1969), наибольший процент делящихся клеток наблюдается в периферических слоях верхушечной меристемы. По данным других авторов (Лебедев, Мельникова, Уткина, 1971; Уткина, 1972), наибольшую митотическую активность проявляют клетки внутренних слоев меристемы. Савелкоул (Savelkoul, 1957), в отличие от вышеперечисленных исследователей, не отмечает существенной разницы в распределении митозов по зонам меристемы.

Нами проведено определение митотического индекса в каждую фиксацию по вариантам опыта в разных зонах корневой меристемы: дерматогене, периблеме, плероме (таблица). Наблюдается известная повторяемость во времени наступления подъемов и спадов клеточных делений в сравнении с суточным ходом митозов в меристеме в целом. Максимумы и минимумы митотической активности наблюдаются в одни и те же часы. Дисперсионный анализ свидетельствует о достоверном изменении митотического индекса по цитогистологическим зонам корня ($F_{\text{факт.}} = 135,5$; $F_{\text{табл.}} = 4,61$ при $P = 0,01$).

В разных зонах корня величина митотической активности не одинакова. Почти во всех фиксациях интенсивность деления кле-

Суточные изменения митотического индекса (%) по зонам корневой меристемы ячменя

Т а б л и ц а

Часы суток	Постоянная темнота (первые сутки)				Постоянная темнота (вторые сутки)				Постоянное освещение			
	дерматоген	перилема	плерома		дерматоген	перилема	плерома		дерматоген	перилема	плерома	
8	10,6±0,9	5,5±0,5	10,6±0,7		8,8±0,7	5,4±0,2	10,6±1,6		3,2±0,9	1,2±0,2	0,9±0,1	
10	6,6±1,1	4,1±0,6	10,6±0,7		5,7±0,7	2,2±0,5	8,7±0,4		2,4±0,3	0,3±0,1	1,6±0,1	
12	7,1±1,6	3,9±0,9	7,9±1,2		5,9±0,2	2,3±0,2	4,7±0,3		4,6±0,4	4,7±0,6	6,7±0,4	
14	1,1±0,5	1,1±0,4	4,8±0,6		2,8±0,3	1,6±0,3	3,9±0,2		5,6±0,5	2,1±0,2	4,1±0,2	
16	5,7±0,9	5,9±0,6	11,2±0,7		2,6±0,4	5,8±0,4	8,2±0,5		2,6±0,8	0,7±0,2	3,2±0,2	
18	3,9±0,6	3,7±0,6	9,8±1,8		5,1±0,4	3,2±0,3	6,7±0,6		1,2±0,4	1,3±0,2	3,2±0,4	
20	6,4±0,8	4,0±0,5	8,1±0,4		3,6±0,4	2,1±0,3	5,3±0,3		5,3±0,6	1,9±0,2	6,7±0,1	
22	6,3±0,9	4,1±0,2	6,5±0,4		3,8±0,3	2,4±0,1	5,3±0,1		1,5±0,6	0,8±0,2	2,4±0,4	
24	5,9±0,9	1,8±0,5	6,5±0,5		3,7±0,5	2,7±0,4	3,6±0,3		4,9±0,7	2,6±0,3	5,0±0,2	
2	3,1±0,2	2,0±0,2	5,8±0,3		5,6±1,3	2,6±0,3	5,2±0,4		1,7±0,4	1,0±0,1	4,1±0,3	
4	6,3±0,7	2,2±0,2	7,4±0,5		5,7±1,1	2,1±0,3	6,1±0,4		2,1±0,5	0,8±0,2	3,9±0,3	
6	7,0±0,4	1,8±0,1	6,3±0,4		4,8±0,6	1,5±0,2	4,9±0,1		2,2±0,5	1,1±0,2	4,8±0,3	
8	8,8±0,7	5,4±0,2	10,6±1,6		5,6±0,3	4,2±0,2	6,2±0,1		2,8±0,5	2,1±0,4	4,6±0,5	
Среднее за сутки	6,1±0,8	3,5±0,4	8,1±0,7		4,9±0,6	2,9±0,3	6,1±0,4		3,1±0,5	1,6±0,2	3,9±0,3	

ток плеромы значительно выше, чем в дерматогене и периблеме. Отсюда и среднесуточный митотический индекс в плероме по всем вариантам опыта наибольший ($8,1 \pm 0,7\%$; $6,1 \pm 0,4\%$; $3,9 \pm 0,3\%$), в дерматогене несколько меньше ($6,1 \pm 0,8\%$; $4,9 \pm 0,6\%$; $6,1 \pm 0,5\%$), в периблеме наименьший ($3,5 \pm 0,4\%$; $2,9 \pm 0,3\%$; $1,6 \pm 0,2\%$). Наиболее митотически активной зоной корневой меристемы ячменя являются внутренние слои клеток — плерома.

Выводы. 1. В меристеме корня на протяжении суток независимо от условий выращивания проростков существует ясно выраженный ритм клеточных делений.

2. В разные сутки ритм митозов сохраняется. Среднесуточный митотический индекс по своей величине может меняться.

3. Реакция корневой меристемы на постоянный свет выражается снижением митотической активности клеток и изменением суточного хода митозов.

4. Среднесуточный митотический индекс по цитогистологическим зонам меристемы не одинаков. Наиболее митотически активными являются клетки плеромы.

5. Суточная ритмика митозов имеет, по-видимому, эндогенно-экзогенную природу.

ЛИТЕРАТУРА

Б ю н н и н г Э., 1961. Ритмы физиологических процессов («Физиологические часы»). М.

Г р и ф В. Г., 1959. О суточной периодичности митозов в меристемах ячменя.— «Цитология», 1, № 2, 229—233.

К р а с т и н а Е. Е., 1965. Ритмичность физиологических процессов у растений. Автореф. докт. дис. М.

К у р с а н о в А. Л., 1960. Взаимосвязь физиологических процессов у растений. М.

Л е б е д е в П. В., М е л ь н и к о в а М. Ф., У т к и н а И. А., 1971. Суточная ритмика митотической активности в верхушечной меристеме побега костра.— «Цитология», 8, № 5, 584—592.

М о в с е с я н С. Н., 1970. Суточный ритм митотического деления в корнях пшеницы.— «Научн. тр. Арм. отд. Всес. ботан. о-ва», 5, № 5, 129—145.

М о к р о н о с о в А. Т., 1962. Особенности фотосинтеза у картофеля в утренние, дневные и вечерние часы при разных фотопериодах.— «Зап. Сверд. отд. ВБО», вып. 2, 65—70.

Р о с т о в ц е в а З. П., 1969. Верхушечная меристема. М.

У т к и н а И. А., 1972. Структурные изменения и органообразовательная деятельность верхушечной меристемы в вегетативный период онтогенеза ежи сборной. Автореф. канд. дис. Свердловск.

Alfieri J. R., Evert R. F., 1968. Analysis of meristematic activity in the root tip of *Melilotus alba* Desr.— «New Phytologist», 67, N 3, 641—647.

Denne M. P., 1966. Morphological changes in the shoot apex of *Trifolium repens* L. 2. Diurnal changes in the vegetative apex.— «New Zeal. J. Bot.», 4, N 4, 434—443.

Edgar E., 1961. Fluctuation of mitotic index in the shoot apex of *Lonicera nitida*. Canterbury, 7—89.

Friesner R. C., 1920. Daily rhythms of elongation and cell division in certain roots.— «Amer. J. Bot.», 7, N 9, 380—406.

Hagemann R., Untersuchungen über die Mitosenhäufigkeit in Gerstenwurzeln. — „Kulturpflanze“, N 4, 46—82.

Harte Y., Zinecker-Brauer J., 1960. Über das Mitoseverhalten in den Wurzelspitzen von *Vicia faba*. 2 Analyse der Variabilität der Mitosehäufigkeit. — „Chromosoma“, 11, N 4, 463—478.

Jensen W. A., Kavaljian Z. Y., 1958. An analysis of cell morphology and the periodicity of division in the root tip of *Allium cepa*. — „Amer. J. Bot.“, 45, N 5, 365—372.

Karsten Y., 1915. Über embryonales wachstum und seine Tagesperiode. — „Zeit. Bot.“, 7, N 1, 1—34.

Kellicott W. E., 1904. The daily periodicity of cell-division and of elongation in the root of *Allium*. — „Bull. Torrey Bot. Club.“, N 31, 529—550.

Lance A., 1952. Sur la structure et le fonctionnement du point végétatif de *Vicia faba* L. — „Ann. Sci. natur. Bot. et biol. veg.“, 11, N 13, 301—339.

Mäkinen Y., 1963. The mitotic cycle in *Allium cepa*, with special reference to the diurnal periodicity and to the seedling aberrations. — „Ann. Bot. Soc. „Vanamo“, 34, N 6, 1—61.

Remacle-Dath M. Th., 1966. Mise en évidence des variations journalières de l'activité mitotique au niveau du méristème caulinaire de *Sinapis alba* L. — „Bull. Soc. Royale Sci. Liege“, 35, N 3—4, 315—321.

Rotta H., 1949. Untersuchungen über tagesperiodische Vorgänge in Spross und Wurzelvegetationspunkten. — „Planta“, N 37, 399—412.

Sarma C. B., 1969. Environmental control of mitosis in the roots of *Ephedra foliata*, 1. The effect of low temperature. — „Cytologia“, 34, N 1, 112—117.

Savelkoul R. M., 1957. Distribution of mitotic activity within the shoot apex of *Elodea densa*. — „Amer. J. Bot.“, 44, № 4, 311—317.

Schreiter J., Meinl Y., 1963. Über die Mitosenhäufigkeit in den Sprossbürtigen Wurzeln der Kartoffel. — „Zeit. Pflanzenzucht“, 49, N 1, 81—86.

Seror C., 1959. Du rythme journalier des mitoses dans le méristème radiculaire de *Vicia faba*. — „Rev. Cyt. et Biol. veg.“, N 21, 72—83.

Tourte M., 1966. Variations rythmiques de l'index mitotique dans le méristème radiculaire du *Triticum vulgare* L. — „Rev. Cyt. et Biol. veg.“, N 29, 199—211.

Winter J. M., 1929. Some observations on the rate of Mitosis in root tip meristems of *Gladiolus*. — „Amer. Microscop. Soc. Trans.“, N 48, 276—291.